云　南　植　物　研　究　2005，27 (5)：572～576
Acta Botanica Yunnanica

茶氨酸和没食子酸在普洱茶中的含量变化

折改梅，张香兰，陈可可，张颖君 ，杨崇仁 *
(中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源可持续利用国家重点实验室，云南 昆明　650204)

摘要：建立高效液相色谱分析茶氨酸和没食子酸的方法，对由云南大叶茶（*Camellia sinensis* var. *assamica*）生产的晒青毛茶及其加工的普洱茶中二者的含量进行分析。结果表明，普洱茶中没食子酸的含量显著增高，而茶氨酸的含量则明显降低。茶氨酸和没食子酸的含量与原料的来源和质量，以及普洱茶的后发酵生产过程均有关系。对二者含量变化的机制进行了初步的讨论。

关键词：普洱茶；茶氨酸；没食子酸
中图分类号：Q 946　　　**文献标识码**：A　　　**文章编号**：0253-2700 (2005) 05-0572-05

Content Variation of Theanine and Gallic Acid in Pu-Er Tea

SHE Gai-Mei，ZHANG Xiang-Lan，CHEN Ke-Ke，
ZHANG Ying-Jun* ，YANG Chong-Ren*
(*State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China*，*Kunming Institute of Botany*，
Chinese Academy of Sciences，Kunming 650204，China)

Abstract：A method for simultaneous analysis of theanine and gallic acid was established by HPLC technique . The content variations of theanine and gallic acid of solar dried green tea of *Camellia sinensis* var. *assamica* and its producing Pu-Er tea were determined by this method . The results showed that the contents of gallic acid significantly enhanced and theanine distinctly reduced in Pu-Er tea . It is noticed that the content of both of theanine and gallic acid are correlative with the producing place and quality of crude materials，as well as with the producing process of the post-fermentation of Pu-Er tea . The mechanism of content variation of theanine and gallic acid was discussed primarily .

Key words：Pu-Er tea；Theanine；Gallic acid

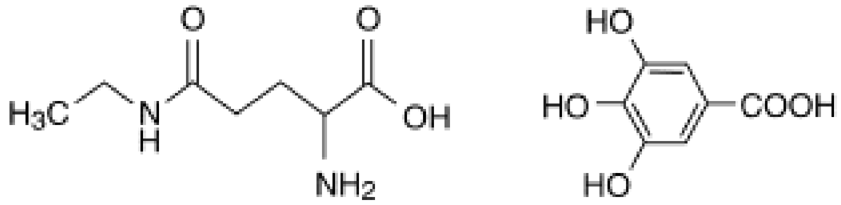
普洱茶是以云南特有的大叶种茶的晒青毛茶为原料，经特殊后发酵过程生产而成的一类茶。普洱茶的后发酵过程有自然发酵和人工发酵两种方式。自然发酵需在一定的条件下经过长时间储藏陈化；人工发酵则多采用渥堆的方式，在高温、高湿的条件下进行。在后发酵过程中，由于微生物的参与，茶叶中原有的各类化学物质发生了转化，形成了普洱茶特有的风味。我们曾对普洱茶及其原料中的多酚类成分进行较系统的化学研究，分离鉴定

通讯联系人 Corresponding author .　E-mail：zhangyj@mail.kib.ac.cn or cryang@mail.kib.ac.cn
收稿日期：2005-06-24，2005-07-27 接受发表
作者简介：折改梅 (1976-) 女，博士研究生，研究方向：资源植物化学。

了一系列的化合物，发现普洱茶多酚类成分的组成与其原料有显著的差异（周志宏等，2000；张雯洁等，1995）。最近，还从普洱茶的渥堆中分离鉴定到若干菌种。其中，有的菌株在普洱茶的后发酵过程中起到关键的作用（另文报道）。

茶氨酸（theanine）又称 N-乙基-γ-L-谷氨酰胺（γ-glutamylethylamide），为茶属植物中的特征性非蛋白质氨基酸。在茶（*Camellia sinensis*）中，约占茶叶游离氨基酸总量的 50%。茶氨酸是赋予茶叶鲜甘滋味的重要物质基础，而且能调节脑神经功能、安神镇静、促进记忆与学习行为、预防血管性痴呆、对抗癌药物有增效作用等（Segesaka 等，1992；陈宗懋，1998）。茶氨酸在大叶茶（*C. sinensis* var. *assamica*）中的含量通常较小叶茶（var. *sinensis*）低（李荣林，1992）。制茶过程对茶叶中茶氨酸的含量亦有明显的影响。

没食子酸（gallic acid），即 3，4，5-三羟基苯甲酸，又称　酸，广泛存在于植物界，是植物水解单宁的重要组成成分。在茶叶中，没食子酸是茶多酚的重要组成单元，常以酯的形式连接在儿茶素的 3 位羟基上，形成一系列的酯型儿茶素衍生物。没食子酸有显著的抗氧化活性（Sakagami 等，1997），并有抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗突变等生理活性（Inoue 等，1994，1995，2000；Yoshioka 等，2000；Ohno 等，2001）。没食子酸在普洱茶中的含量较高，是普洱茶的一个特征性、具生理活性的简单酚类化合物。



茶氨酸（Theanine）　　没食子酸（gallic acid）

鉴于茶氨酸作为茶叶中的重要生理活性物质，日益引起广泛的重视；没食子酸为重要的天然抗氧化物质，大量存在于普洱茶中；对这两个生理活性成分的定量分析，将有助于对普洱茶进行科学的评价。本文首次应用高压液相色谱技术同时分析普洱茶中茶氨酸和没食子酸的含量，探讨这两个特征化学成分在普洱茶后发酵制作过程中的变化规律，为建立普洱茶的规范加工生产模式，制订科学的质量标准，开发优质普洱茶产品，培育普洱茶品牌提供技术基础。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　**试验样品**　以云南省勐腊县易武镇栽培大叶茶（*Camellia sinensis*（L.）O. Kuntze var. *assamica*（Master）Kitamura）生产的晒青毛茶和普洱茶样品为：台地式茶园 2004 年秋的嫩芽（A-1）和老叶（B-1）晒青毛茶，半野生老茶树晒青毛茶（C-1），渥堆发酵的普洱茶（A-2，B-2，C-2），不同陈化年代的晒青毛茶饼茶［包括 2001（D），2002（E），2004（F）和 2005 年（G）的产品］。以上样品均系作者在现场考察，由易武镇隆昌号和庆春号茶厂提供。

以思茅产大叶茶的晒青毛茶为原料进行渥堆后发酵生产的样品有：原料（H）、第 1 次翻堆（I）、第 2 次翻堆（J）、第 3 次翻堆（K）、第 4 次翻堆（L）、成品（M）等。系云南农业大学茶学系茶厂于 2004 年 10 月在昆明生产，由云南农业大学邵苑芳副教授提供。

1.1.2　**仪器和试剂**　Waters 2695 2996 高效液相色谱仪、Millennium^{32} 色谱数据管理系统。微量电子天平，21-6 型电热水浴锅。

色谱纯乙腈，分析纯三氟乙酸，纯水。

没食子酸标准品由普洱茶中分离纯化，并经 NMR 和 MS 谱等数据鉴定化学结构。茶氨酸标准品由中国农业科学研究院茶叶研究所林智博士提供。

1.2　测定方法 (朱小兰等，2003)

1.2.1　分析样品制备　称取粉碎的茶叶样品 1.5 g，加入热水 30 ml，在 80℃热水浴中加热 40 min，过滤，冷却，滤液加水定容为 50 ml，用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，待测。

1.2.2　色谱条件　色谱柱：ZORBAX SB-C18 (4.6×250 mm，5 μm)；流动相：0.05% 三氟乙酸 - 水溶液；流速：1 ml min；UV 检测器，检测波长 203 nm；柱温 30℃，进样量 10 μl。重复测定 3 次，取平均值。

1.2.3　标准曲线　茶氨酸标准品线性关系为 y = 1E + 06X + 110129，R^2 = 0.9972；没食子酸标准品线性关系为 y = 5E - 06X + 264302，R^2 = 0.9979。

2　结果与讨论

勐腊县易武镇是历史上著名的云南省六大茶山之一，当地栽培和半野生的大叶茶 (*C. sinensis* var. *assamica*) 是云南普洱茶的传统原料。本文采用该地产的茶叶样品进行比较分析，具有一定典型意义。

本文在前人已有工作的基础上，采用 ODS 色谱柱，紫外光谱波长 203 nm 检测，建立了在对未衍生化的茶氨酸直接进行 HPLC 定量分析的同时，对没食子酸亦进行定量分析的方法。实验结果表明，该方法操作方便，快速，测试样品不需要生化预处理，不需要浓缩富集，重现性好，灵敏度高，特别适宜于茶叶中茶氨酸和没食子酸的同时定量分析。茶氨酸和没食子酸在 HPLC 图谱中的保留时间分别为 6.8 和 16.2 min (图 1)。

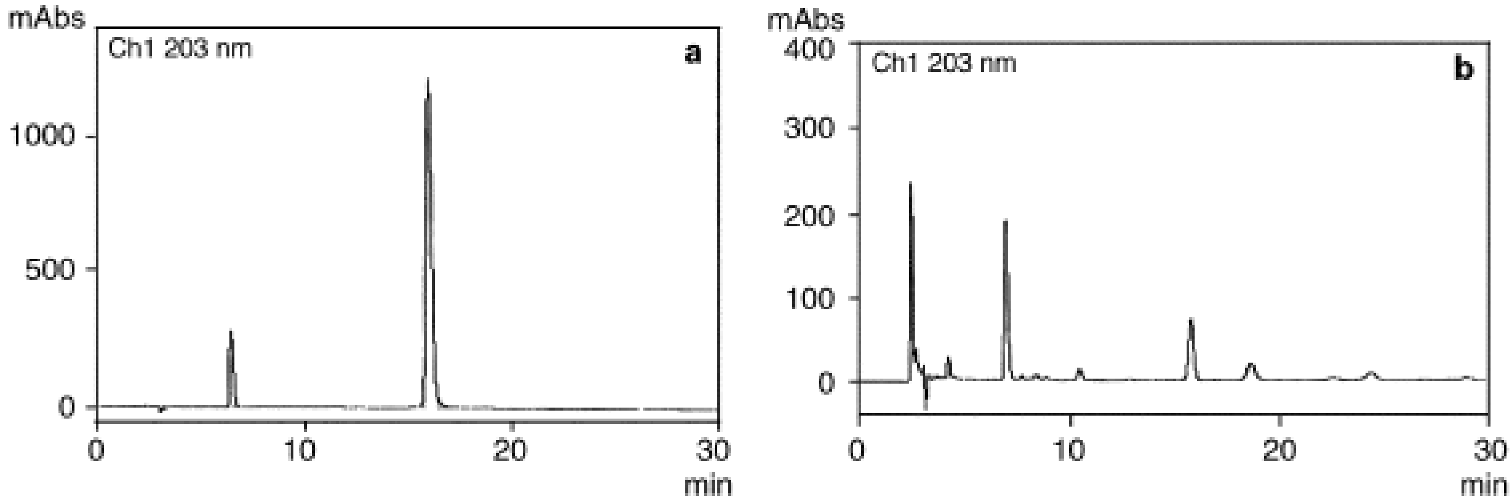


图 1　a. 茶氨酸和没食子酸标准品的 HPLC 的图谱；b. 样品 C-1 的 HPLC 图谱

Fig. 1　a. HPLC chart of theanine and gallic acid; b. HPLC chart of sample C-1

对大叶茶制作的晒青毛茶和普洱茶，以及普洱茶加工过程 (自然发酵和人工发酵) 中的茶氨酸和没食子酸的 HPLC 分析结果表明 (表 1)，晒青毛茶的茶氨酸含量随原料不同而有差别。例如：半野生老茶树晒青毛茶 (C-1) 的茶氨酸含量比同时采制的台地晒青毛茶 (A-1 和 B-1) 高；台地茶无论老叶 (B-1) 和幼叶 (A-1) 的茶氨酸含量均十分相似。晒青毛茶经渥堆后发酵制成普洱茶后，茶氨酸的含量显著降低，减少可达 10 倍左右 (图 2)。晒青毛茶自然陈化需要较长的时间，其中，陈化 4～5 年内的普洱茶 (D-G) 中茶氨酸含量变化不明显 (图 3)。人工渥堆后发酵生产的普洱茶，其茶氨酸含量则呈现明显的变化 (图 4)。

表 1　普洱茶及其原料中茶氨酸和没食子酸的 HPLC 含量分析数据

Table 1　The HPLC quantitative analysis data of theanine and gallic acid in Pu-Er tea and its crude materials

样品 (samples)	茶氨酸 (%) (theanine)	没食子酸 (%) (gallic acid)
A-1	0.280	0.213
A-2	0.029	0.192
B-1	0.258	0.364
B-2	0.033	0.896
C-1	0.590	0.079
C-2	0.041	0.896
D	0.390	0.248
E	0.330	0.194
F	0.390	0.174
G	0.410	0.105
H	0.402	0.102
I	0.529	1.675
J	0.271	1.644
K	0.184	1.677
L	0.116	1.992
M	0.086	1.770

注：样品编号见实验部分试验样品

茶氨酸在茶叶中的含量可达3%左右，大叶茶中茶氨酸含量普遍偏低。本研究结果表明，大叶茶的晒青毛茶经后发酵过程制成普洱茶后，茶氨酸的含量更加显著降低。茶氨酸很容易降解为谷氨酸和乙酰胺。普洱茶的后发酵过程中，在湿热的条件和微生物的催化作用下，茶氨酸可能产生了降解。

没食子酸含量随晒青毛茶的原料来源和质量而有差别。例如：老茶树晒青毛茶的没食子酸含量比同时采制的台地茶晒青毛茶低 20 多倍。台地茶老叶较幼叶的没食子酸含量略高（图 2)。没食子酸含量亦随晒青毛茶储藏的时间逐渐增加（图 3)。

老茶树和台地老茶叶的晒青毛茶制成普洱茶后，没食子酸的含量均显著增加；老茶树晒青毛茶制作的普洱茶没食子酸含量增加达 10 倍左右；台地老茶叶晒青毛茶制作的普洱茶的没食子酸含量亦明显增加；但是，嫩芽晒青毛茶生产的普洱茶中没食子酸含量反而减少。

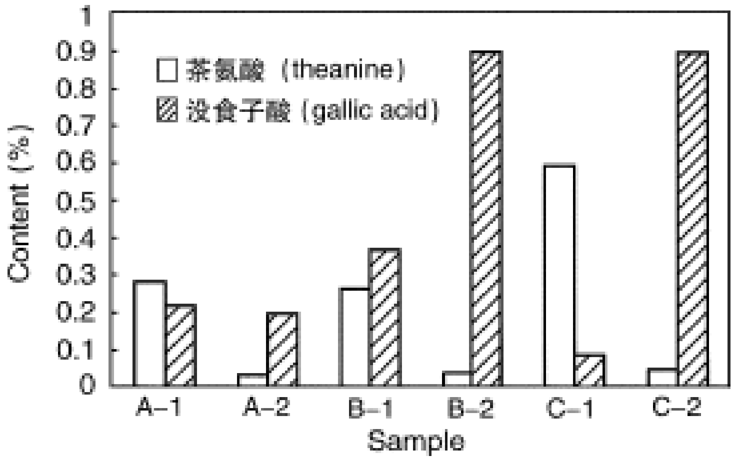


图 2　普洱茶及其原料茶中茶氨酸和没食子酸的含量比较

Fig . 2　Content of theanine and gallic acid in Pu-Er tea and its crude materials

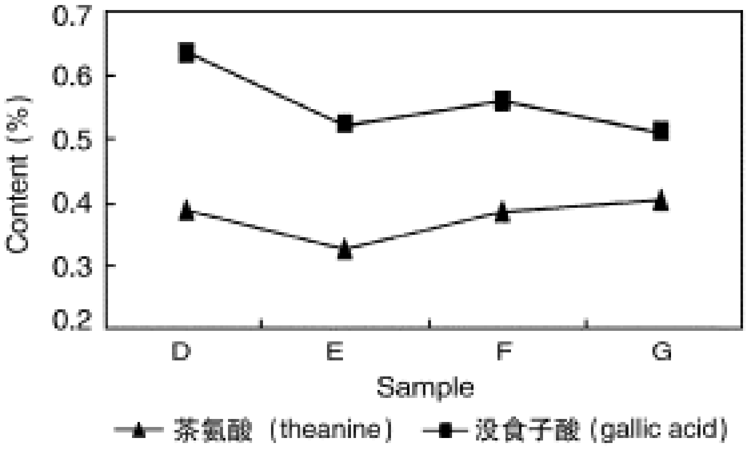


图 3　晒青毛茶陈化过程中茶氨酸和没食子酸的含量变化

Fig . 3　Content variations of theanine and gallic acid during the natural storage

用大叶茶生产的普洱茶是云南特有的加工茶。目前，通常采用渥堆的传统技术生产普洱茶。与其原料相比较，普洱茶的没食子酸含量显著增加。以第 1 次翻堆时的增加最为显著，而后的加工过程中增加幅度较小（图 4)。我们对普洱茶的化学研究结果也证明，没食子酸是普洱茶的特征性酚类化合物。没食子酸的形成与茶多酚没食子酰酯在微生物参与的后发酵过程中的降解有关。最近报道，一些曲霉菌具有增加单宁酶的浓度，促进底物单宁酸降解和没食子酸形成的作用（Mukherje 等，2004；Van Diepeningen 等，2004)。最近，我们从普洱茶发酵堆中分离到一系列的曲霉菌，其中，臭曲霉（Aspergillus foetidus Thom & Raper）等均有降解没食子酸的能力（待发表)。显然，普洱茶的后发酵过程中，没食子酸含量的增加与菌群的种类和发酵的条件有密切的关系。因此，优选发酵菌群，控制后发酵

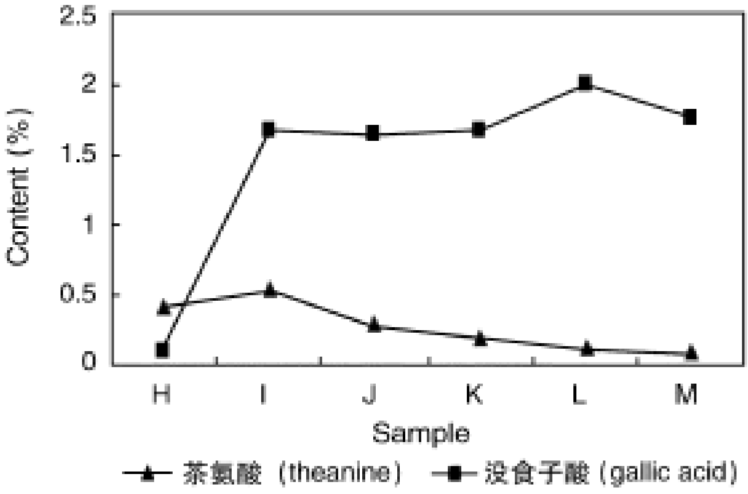


图 4　普洱茶生产过程中茶氨酸和没食子酸的含量变化

Fig．4　Content variations of theanine and gallic acid during the producing process of Pu-Er tea

过程，是生产优质普洱茶的关键技术环节。

以上部分地区茶叶样品的初步分析结果提示，茶氨酸和没食子酸作为影响茶叶品质的重要物质，在云南大叶茶中的含量与原料有直接的关系。不同的原料来源，不同的茶叶部位，不同的采集时间等均对茶氨酸和没食子酸的含量有影响；同时，在普洱茶的后发酵生产过程中，在微生物的作用下，茶氨酸和没食子酸的含量亦有显著的变化。有必要开展深入的研究，揭示这两类代谢产物在大叶茶的品种之间和生长发育过程中，以及在茶叶加工过程中的形成和积累的规律。

致谢　云南农业大学邵苑芳先生提供普洱茶样品。

〔参　考　文　献〕

李荣林，1992．茶叶中茶氨酸的研究［J］．茶叶通讯，3：31—34

陈宗懋，1997．茶氨酸的人工合成和药用开发［J］．中国茶叶，4：26—27

Inoue M，Suzuki R，Koide T，*et al*，1994．Antioxidant，gallic acid．induces apoptosis in HL-60RG cells［J］．*Biochem Biophys Res Commun*，204（2）：898—904

Inoue M，Suzuki R，Sakaguchi N，*et al*，1995．Selective induction of cell detch in cancer cells by gallic acid［J］．*Biol Pharm Bull*，18（11）：1526—1530

Inoue M，Sakaguchi N，Isuzugawa K，*et al*，2000．Role of reactive oxygen species in gallic acid-induced apoptosis［J］．*Biol Pharm Bull*，23（10）：1153—1157

Mukherjee G，Banerjee R，2004．Biosynthesis of tannase and gallic acid from tannin rich substrates by *Rhizopus oryzae* and *Aspergillus foetidus*［J］．*Basic Microbio*，44（1）：42—8

Ohno T，Inoue M，Ogihara Y，2001．Cytotoxic activity of gallic acid against liver metastasis of mastocytoma cells P815［J］．*Anticancer Res*，21（6A）：3875—3880

Segesaka Y，Kakus T，1992．Pharmacological effect of theanine［C］．The Organizing Committee of ISTS，362—365

Sakagami H，Satoh K，1997．Prooxidant；ascorbic acid and gallic acid［J］．*Anticancer Res*，17（1A）：221—224

Van Diepeningen AD，Debets AJ，Varga J，*et al*，2004．Efficient degradation of tannic acid by black Aspergillus species［J］．*Mycol Res*，108（8）：919—25

Yoshioka K，Kataoka T，Hayashi T，*et al*，2000．Nduction of apoptosis by gallic acid in human stomach cancer KATOLLL and colon adenocarcinoma Colo 205 cell lines［J］．*Oncol Rep*，7（6）：1221—1223

Zhang WJ（张雯洁），Liu YQ（刘玉清），Li XC（李兴从），*et al*，1995．Chemical constitutes of“Ecological Tea”from Yunnan［J］．*Acta Bot Yunnan*（云南植物研究），17（2）：204—208

Zhou ZH（周志宏），Yang CR（杨崇仁），2000．Chemical constituents of crude green tea，the material of Pu-er tea in Yunnan［J］．*Acta Bot Yunnan*（云南植物研究），22（3）：343—350

Zhu XL（朱小兰），Chen B（陈波），Luo XB（罗旭彪），*et al*，2003．Determination of theanine in tea by reversed-phase high performance liquid chromatography［J］．*Chinese Journal of Chromatography*（色谱），21（4）：400—402